

受理年月日	受理番号

帯広畜産大学原虫病研究センター共同研究報告書

平成28年 6月 2日

採択番号	27-共同-3		
研究部門	診断治療研究部門	原虫病研究センター 内共同研究担当教員	河津 信一郎
研究課題名	バベシア原虫メロゾイトの宿主赤血球遊出機構の解析		
研究代表者	(ふりがな) 氏名	所属部局等・職名	
	あさだ まさひと 麻田 正仁	長崎大学熱帯医学研究所・助教	
研究分担者	かねこ おさむ 金子 修	長崎大学熱帯医学研究所・教授	
	やはた かずひで 矢幡 一英	長崎大学熱帯医学研究所・助教	
	かわづ しんいちろう 河津 信一郎	帯広畜産大学原虫病研究センター・教授	
研究期間	平成27年 4月 1日 ~ 平成28年 3月31日		
目的・趣旨	<p>バベシア原虫はアピコンプレクサ門に属し、ウシなどの家畜に感染し国内外の畜産業に多大な経済的損失を与える赤血球寄生性の原虫である。これまで我々はウシ寄生性の <i>Babesia bovis</i> メロゾイトにおいて外来遺伝子を過剰発現する、あるいは任意の遺伝子を欠損する遺伝子改変技術を確立してきた。同時にこれらの技術を応用して、同原虫の宿主赤血球への侵入メカニズムの解析も行ってきた。これまでの共同研究から、バベシア原虫メロゾイトの遊出がカルシウムイオン $[Ca^{2+}]$ 依存性であることを初めて見出した。さらに、Ca^{2+} 上昇以降から原虫の遊出までの分子機構についてはマalaria原虫でのそれとは異なることを示唆する結果が得られたが、その詳細はまだ明らかとなっていない。バベシア原虫は赤血球寄生の初期の段階で寄生胞膜が脱落するため、他のアピコンプレクサ門原虫とは異なるユニークなメロゾイトの脱出制御機構が存在するのではないかと考えられ、さらに遊出は原虫に対する薬剤ターゲットにも成り得るため、メロゾイトの遊出機構解析を目的とした。</p>		
研究経過の概要	<p>平成26年度の共同研究により <i>B. bovis</i> メロゾイト細胞質内カルシウムイオン濃度 $[Ca^{2+}]$ の動態を観察する目的で Yellow cameleon-Nano (YCnano50) を発現する <i>B. bovis</i> を作出した。今年度は YCnano50 発現原虫を用いてイメージング実験を行い、カルシウムイオノフォア投与時のメロゾイト内 $[Ca^{2+}]$ 上昇について解析を行った。</p>		

受理年月日	受理番号

<p>研究成果の概要</p>	<p>トランスフェクションにより得られた YCnano50 発現原虫を共焦点レーザー顕微鏡にて観察したところ、細胞質内に YFP、CFP の蛍光シグナルが検出できた。これらのシグナルは時間と共に減衰したが、数分に渡るタイムラプスイメージング解析が可能であった(図 1)。</p> <p>そこで、このトランスジェニック原虫の <i>in vitro</i> 培養感染血にカルシウムイオノフォア A23187 を投与しタイムラプスイメージング解析を行ったところ、A23187 の投与約 30 秒後に細胞質内 $[Ca^{2+}]$ の上昇を示す YFP/CFP 比の上昇が観測された。この YFP/CFP 比の上昇は単梨子、双梨子状の原虫ともに観測された(図 1)。細胞質内 $[Ca^{2+}]$ の上昇に引き続き、単梨子状の感染赤血球膜は破裂することなく、成熟した大型の双梨子状の原虫感染赤血球膜のみが破裂した。感染赤血球膜の破裂後、メロゾイトが滑走しながら、赤血球から遊出する像が観察された。これらのことから、A23187 による原虫細胞質 $[Ca^{2+}]$ の一過性の上昇が <i>B. bovis</i> メロゾイトの赤血球からの遊出を誘導することが示唆されたと共に、YCnano50 発現 <i>B. bovis</i> が原虫細胞質内 $[Ca^{2+}]$ をモニターする上で有用なツールとなることが示された。</p> <p>今後原虫細胞質内 $[Ca^{2+}]$ の上昇と赤血球膜の崩壊、メロゾイトの滑走運動の関係について詳細に調べるため、タイムラプスイメージング解析を続けると共に、これらの現象に関わる分子の同定を進める予定である。</p>
<p>研究成果の発表</p>	<p>(学会発表 1 件)</p> <p>[1] 麻田 正仁、Ehab Mossaad、Hassan Hakimi、矢幡 一英、河津 信一郎、金子 修. バベシア原虫メロゾイトの宿主赤血球遊出機構、第 13 回分子寄生虫学マラリア研究フォーラム合同大会 2015 年 8 月 30 日～9 月 2 日、帯広畜産大学</p>

図1. YCnano50発現*B. bovis*並びに、A23187投与時の蛍光シグナル

